

Aus der I. Inneren Abteilung
des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Professor Dr.med. Klaus H o l l d a c k

DER EINFLUSS VON EISEN UND KOBALT AUF
MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karl-Heinz Löchte
aus Bevergern

1971

Aus der I. Inneren Abteilung
des Städt. Krankenhauses Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Professor Dr.med. Klaus H o l l d a c k

DER EINFLUSS VON EISEN UND KOBALT AUF
MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Karl-Heinz Löchte
aus Bevergern

Referent: Professor Dr. med. Irene Doll

Korreferent: Professor Dr. med. Walther Pribilla



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 6. 11. 1971

INHALT

I.	Einleitung	1
II.	Die Entwicklung der Kunst	1
III.	Die Kunst der Gegenwart	12
IV.	Die Kunst der Zukunft	12
V.	Die Kunst der Vergangenheit	12
VI.	Die Kunst der Gegenwart	12
VII.	Die Kunst der Zukunft	12
VIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
IX.	Die Kunst der Gegenwart	12
X.	Die Kunst der Zukunft	12
XI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XIII.	Die Kunst der Zukunft	12
XIV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XV.	Die Kunst der Gegenwart	12
XVI.	Die Kunst der Zukunft	12
XVII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XVIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XIX.	Die Kunst der Zukunft	12
XX.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXI.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXII.	Die Kunst der Zukunft	12
XXIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXIV.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXV.	Die Kunst der Zukunft	12
XXVI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXVII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXVIII.	Die Kunst der Zukunft	12
XXIX.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXX.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXXI.	Die Kunst der Zukunft	12
XXXII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXXIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXXIV.	Die Kunst der Zukunft	12
XXXV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXXVI.	Die Kunst der Gegenwart	12
XXXVII.	Die Kunst der Zukunft	12
XXXVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XXXIX.	Die Kunst der Gegenwart	12
XL.	Die Kunst der Zukunft	12
XLI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XLII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XLIII.	Die Kunst der Zukunft	12
XLIV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XLV.	Die Kunst der Gegenwart	12
XLVI.	Die Kunst der Zukunft	12
XLVII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XLVIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
XLIX.	Die Kunst der Zukunft	12
L.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LI.	Die Kunst der Gegenwart	12
LII.	Die Kunst der Zukunft	12
LIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LIV.	Die Kunst der Gegenwart	12
LV.	Die Kunst der Zukunft	12
LVI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LVII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LVIII.	Die Kunst der Zukunft	12
LIX.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LX.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXI.	Die Kunst der Zukunft	12
LXII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXIV.	Die Kunst der Zukunft	12
LXV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXVI.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXVII.	Die Kunst der Zukunft	12
LXVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXIX.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXX.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXIII.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXIV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXV.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXVI.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXVII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXVIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXIX.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXX.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXI.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXII.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXIV.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXV.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXVI.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXVII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXVIII.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXIX.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXX.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXXI.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXXII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXXIII.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXXIV.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXXV.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXXVI.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXXVII.	Die Kunst der Zukunft	12
LXXXXVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
LXXXXIX.	Die Kunst der Gegenwart	12
LXXXXX.	Die Kunst der Zukunft	12

MEINEN ELTERN

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I. EINLEITUNG	4
II. MATERIAL UND METHODE	7
III. ERGEBNISSE	12
A. Differentialzählungen	12
B. Zusammenfassung der Ergebnisse	27
C. Signifikanzberechnung	31
IV. DISKUSSION	37
V. ZUSAMMENFASSUNG	40
VI. ABBILDUNGEN	41
VII. LITERATURVERZEICHNIS	53

Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

1929 berichteten WALTNER und WALTNER über eine "ausgesprochene Vermehrung der roten Blutzellen und ein Ansteigen des Hämoglobingehaltes bei Ratten nach oralen Kobaltgaben" (19). Die Bedeutung des Kobalts wurde aber erst erkannt, als gegen Ende der dreißiger Jahre bei Wiederkäuern auf den Weiden Neuseelands, Nordamerikas und Australiens eine Mangelerkrankung auftrat, die neben anderen Erscheinungen auch eine Anämie zeigte und die durch Verfütterung von kobalthaltigen Erzen reversibel war. Diese Krankheit wurde unter den Namen cost-disease, wasting disease, cost-sickness, solwaypine und anderen bekannt (15).

Seit dieser Zeit wendet man dem Kobalt mehr Beachtung zu, und viele Autoren berichten über eine pharmakologische Wirkung des Kobalts.

Nach diesen Arbeiten ist gesichert:

Kobalt hat eine anregende Wirkung auf die Erythrozytopoese. In der Form von Kobaltchlorid sollte Kobalt nicht gegeben werden, da diese Verbindung, besonders oral verabreicht, nicht gut vertragen wird und Nebenerscheinungen wie Hitzegefühl, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und starker Kopfschmerz auftreten, die oft zu einer Beendigung der Therapie zwingen (8, 10, 23). Die oral verabreichten Kobaltsalze organischer Säuren und die intravenös gegebenen Komplexverbindungen des Kobalts zeigen dagegen eine gute Wirkung und wenige Nebenerscheinungen (12, 18, 26).

Die pharmakologische Wirkung des Kobalts kann durch Aethylen-diamintetraessigsäure, Histidin, Cystein und andere sulfhydrylhaltige Substanzen, Methylenblau, Vitamin C und Vitamine der B-Gruppe gehemmt, wenn nicht aufgehoben werden (21).

Kobalt sollte zusammen mit Eisen verabreicht werden, da bei Kobaltgaben der Eisenverbrauch erhöht wird (17). Hierbei kommt dem Eisen eine passive Bedeutung zu, es ist keinesfalls pharmakologisch wirksam (11, 16).

Kobalt besitzt die Fähigkeit, ein noch reaktionsfähiges Knochenmark zu aktivieren, zur Neubildung von Erythrozyten anzuregen und die Ausnutzung der Eisenreserven bei der Hämoglobinbildung zu verstärken.

Wir sehen also im einzelnen Erfolge bei:

1. Tumoranämien (17, 18),
2. Infektanämien (16, 17, 23),
3. Anämien, die nach Eisengaben eine ungenügende oder zu langsame Besserung zeigen (12).

Nicht voll aufgeklärt ist bis heute der Angriffspunkt und der Wirkungsmechanismus des Kobaltsalzes.

WEISBECKER nahm an, daß Kobalt die SH-Gruppen im Redoxsystem der Zelle blocken und damit die Sauerstoffversorgung beeinträchtigen könne. Dadurch entstünde in der Zelle ein Sauerstoffunterangebot. WEISBECKER prägte hierfür den Begriff "Aredoxie". So wäre durch Kobalt in der Zelle der gleiche Zustand geschaffen wie im Höhenklima (21). Gestützt wurde WEISBECKERS Theorie noch durch Untersuchungen von MARSHALL (14), ANDERSON et al. (1), die feststellten, daß Substanzen, die die Zellatmung begünstigen, imstande sind, die Kobaltwirkung zu hemmen.

Neue Aspekte brachte jedoch die Entdeckung des Erythropoetins, eines Enzyms, das wahrscheinlich in der Niere gebildet wird.

"There is a good evidence that the stimulation of red cell production that follows blood loss and hypoxia is mediated through erythropoietine. However, the actual steps by which hypoxia, blood loss and, also cobalt produce increased plasma levels of erythropoietine are unknown" (BRECHER, G. und F. STOHLMANN) (7).

Unabhängig vom Einfluß auf die Bildung von Erythropoetin hat Kobalt noch direkte cytobiologische Fähigkeiten (13). ASTALDI und MEARDI berichten über einen Versuch mit bebrüteten Hühnereiern, denen sie 18,75 mg einer Kobaltverbindung injizierten. Nach 96 Stunden entnahmen sie den zirkulierenden Gefäßen Blut und untersuchten es im May-Grünwald-Giemsa gefärbten Ausstrich. Sie stellten eine signifikant schnellere Reifung der polychromatischen und der basophilen Megaloblasten bei den mit Kobalt behandelten Embryonen fest und schlossen daraus auf eine Reifungsstimulation durch Kobalt (2). WOLTERS führt die direkte Wirkung von Kobalt im Knochenmark auf eine Steigerung der Empfindlichkeit von Knochenmarkzellen gegen Erythropoetin zurück (26).

In der vorliegenden Arbeit wollen wir die direkte Wirkung von Kobalt auf menschliches Knochenmark in vitro untersuchen.

II. MATERIAL UND METHODE

Bei sieben Patienten wurde das Sternum punktiert. Es wurde sofort ein Originalausstrich angefertigt und nach PAPPENHEIM gefärbt.

Dem restlichen Knochenmark wurde zur Verhinderung der Blutgerinnung Heparinlösung 3 mg % in Hanks Lsg. zugesetzt. Die Kulturen wurden nach der Carrel'schen Deckglasmethode, modifiziert nach BOLL, angesetzt (5, 6). Das Nährmedium bestand aus 50% Nativ-Plasma des Patienten, 10% Corhormon^R, dreifach verstärkt, der Firma Chemiewerk Hamburg, 40% Hanks Lsg. Der Hälfte des Mediums wurde Kobalt-Ferrlecit^R, Kobalt in der komplexen Form als Natrium-Kobaltiat-Saccharat-Gluconat zugesetzt, so daß sich eine Konzentration von 0,03 y/ml Co und 1,25 y/ml Fe ergab. Auf Objektträger wurde nun ein Tropfen des Mediums bzw. des Mediums mit Kobalt-Ferrlecit^R Zusatz gegeben, der nach wenigen Minuten ein Koagulum bildete. Auf diese Koagula wurden Knochenmarkbröckchen gesetzt und mit Serum, dem ebenfalls das Eisen-Kobalt-Komplexsalz zugesetzt war, überschichtet. Die Kulturen wurden mit Hohl-schliffobjektträgern bedeckt, durch Hartparaffin luftdicht abgeschlossen und umgedreht, so daß Kulturen am hängenden Tropfen entstanden. Diese wurden bei 37°C für 24 h, 48 h und 72 h bebrütet, ausgestrichen und nach PAPPENHEIM gefärbt. Pro Patient wurden sieben Präparate ausgewertet; ein Original, drei Präparate mit Eisen-Kobalt-Zusatz und drei Kontrollen. Pro Präparat wurden 1 000 Zellen ausschließlich in der Fahne des Ausstrichs differenziert, indem diese mäanderförmig durchmustert wurden.

Die Zellen wurden wie folgt differenziert (4, 5):

Erythrocytopoese:

Proerythroblast (PE): Er ist die Stammzelle der Erythrocyten; eine abgerundete Zelle mit zentrisch gelagertem, großem runden Zellkern, fein gezeichnetem Chromatinnetz und schmalem basophilen Cytoplasmasaum.

Basophiler Erythroblast (bE): Der Kern nimmt an Volumen ab; das Chromatin ist grobschollig strukturiert. Der Cytoplasmasaum wird breiter und ist kräftig basophil.

Polychromatischer Erythroblast (pE): Der Kern zeigt die typische Radspeichenstruktur. Das Cytoplasma verliert durch beginnende Hämoglobineinlagerung seine Basophilie und erscheint grau-blau bis grau-rosé.

Oxyphiler Erythroblast (oE): Er ist die letzte noch teilungsfähige Zelle der Erythrocytopoese. Der Kern ist klein und dichter, oft noch mit Radspeichenstruktur. Die Hämoglobineinlagerung ist vollständig, und das Cytoplasma färbt sich rot-orange.

Reifer Erythroblast (rE): Der völlig pyknotische, schwarze Kern ist oft exzentrisch gelagert. Das Cytoplasma ist gelegentlich polychromatisch, sonst wie das des oxyphilen Erythroblasten und der Erythrocyten gefärbt.

Granulocytopoese:

- Myeloblast (MB): Er ist die Stammzelle der Granulocytopoese mit großem, rundem, an einer Stelle oft abgeflachtem Kern, der fein strukturiert und von einem sehr schmalen, schwach basophilen Cytoplasmasaum umgeben ist.
- Promyelocyt (PM): Er ist die größte Zelle der Granulocytopoese mit einem ovalen Kern und charakteristisch azurophiler Granulation.
- Myelocyt (neutrophil) (MC): Der Kern hat eine ovale Form. Das Cytoplasma hat die azurophile Granulation verloren und erscheint gleichmäßig neutrophil (grau-farblos).
- Metamyelocyt (MM): Der Kern buchtet sich stark ein und ist grob strukturiert. Das Cytoplasma gleicht dem des Myelocyten.
- Stabkerniger Granulocyt (StG): Er ist durch die Ausbildung eines C- oder S-förmigen Kernes gekennzeichnet. Die Kernstruktur erscheint durch Vergrößerung der Chromatinschollen dichter als beim Metamyelocyten.
- Segmentkerniger Granulocyt (SG): Der Kern hat die Form einer Hantel oder eines Kleeblattes. Das Cytoplasma ist oft auffällig granuliert.
- Promonocyt (PMo): In der Größe gleicht er dem Promyelocyten. Der Kern, oft einseitig eingebuchtet, erscheint locker. Das rauchgraue Cytoplasma zeigt zarte Azurgranulation.

Monocyt (Mo): Charakteristisch ist der große, gelappte, vielgestaltige Kern mit lockerem, grobfädigem Chromatin in einem rauchgrauen Cytoplasma.

Der eosinophile Myelocyt (eMC), Metamyelocyt (eMM) und stab- und segmentförmige Granulocyt (eStG, eSG) besitzen die gleiche Kernform wie die entsprechenden neutrophilen Formen. Das Cytoplasma ist jedoch mit dicken, auffällig orangefarbenen Granula ausgefüllt.

Die basophilen Entwicklungsstufen von Myelocyten (bMC) bis zum segmentförmigen Myelocyten zeigen entsprechende basophile Granulation.

Neben den Zellen der Erythrocytopoese und der Granulocytopoese wurden noch folgende Zellen differenziert:

Große Retikulumzelle:

Charakteristisch ist der rund-ovale, blaßrote Kern mit feinfädiger und lockerer Chromatinstruktur. Die Cytoplasmagrenzen sind oft nicht erkennbar. Interplasmatische Einlagerungen von phagozytiertem Material kommen vor.

Lymphocyt:

Er besitzt einen großen, runden Kern, der sich kräftig anfärben läßt. Die oft sichelförmig aufliegende Protoplasma-rinde weist keine Granula auf.

Die einzelnen Mitosephasen wurden wie folgt unterschieden (3):

1. Prophase: Die Kernstruktur ist gröber als im Ruhekern, die Zellmembran aufgelöst.

2. Frühe Meta- Die Chromosomen liegen wurmartig über die
phase: Zelle verstreut.
3. Späte Meta- Die Chromosomen haben sich verdoppelt und
phase: liegen in der Äquatorialplatte, so daß sie
als Monaster oder als breites, aufgelocker-
tes Band erscheinen.
4. Anaphase: Die Chromosomen sind zu den Polen gewandert
und werden als Diaster gesehen.
5. Telophase: Die Chromosomen bilden zwei lockere Spiremen.
Der Zelleib schnürt sich ein.
6. Rekonstruk- Die Teilung des Zellplasmas ist vollständig,
tionsphase: beide Zellen sind nur noch durch ein Plasma-
fädchen (oft nicht sichtbar) verbunden. Die
Kerne bilden ein festes Spirem und umgeben
sich mit einer Zellmembran.

III. ERGEBNISSE

A. Differentialzählungen

Insgesamt wurde von sieben Patienten Knochenmark aus dem Sternum kultiviert, davon wurden 60 000 Zellen differenziert. Die Ergebnisse der Auszählung wurden in Reifungskurven dargestellt, die das Verhältnis der einzelnen Zellarten und Reifungsstadien wiedergeben. Außerdem wurden der Mitoseindex der Erythrocytopoese (rMI), der Granulocytopoese (wMI) und ein Index bestimmt, der das Verhältnis der Granulocytopoese zur Erythrocytopoese angibt ($\frac{G}{E} I$).

$$r \text{ M I} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1\,000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Erythroblasten}}$$

teilungsfähige Erythroblasten: Proerythroblast,
basophiler Erythroblast,
polychromatischer Erythroblast,
orthochromatischer Erythroblast.

$$w \text{ M I} = \frac{\text{Anzahl der Mitosen} \times 1\,000}{\text{Anzahl der teilungsfähigen Zellen der Granulocytopoese}}$$

teilungsfähige Zellen: Myeloblast, Promyelocyt,
Myelocyt, Metamyelocyt.

$$\frac{G}{E} I = \frac{\text{Gesamtzahl der Zellen der Granulocytopoese}}{\text{Gesamtzahl der Zellen der Erythrocytopoese}}$$

Fall 1

Kurt P., 66 Jahre

Klinische Diagnose:

Schrittmacherträger

Diabetes mellitus

Lymphogranulomatose

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Lanicor^R, Tanderil^R, DB retard^R,
Invenol^R, Rastinon^R, Valium^R

Sternalpunktat vom 27.1.1969:

Im wesentlichen normales Knochenmark mit
angeregter Erythrocytopoese und Monocytose.

Diff. Blutbild vom 21.1.1969:

Ery.: 4.50 Mill/mm ³	Leuko.: 6.500 /mm ³
Hb _E : 14,1 g %	Eos. : 2
Hb : 31,1 pg	Seg. : 43
Anisocyt: (+)	Lympho: 47
Poikilocyt: (+)	Mono.: 4
Polychrom: (+)	Atypische mononucleäre Zellen) AMZ: 4

Thromb. 210 000/mm³

In der Erythrocytopoese zeigt sich bei den 24- und 48-Stunden-Präparaten der Versuchskultur ein starker Rückgang der teilungsfähigen Erythroblasten gegenüber den Kontrollen, bei denen auch schon eine Rechtsverschiebung deutlich ist. Die reifen Erythroblasten nehmen entsprechend zu.

In der Granulocytopoese sehen wir nach 24 h im Versuch eine stärkere Linksverschiebung als in den Kontrollen, die nach 48 h und 72 h in eine Rechtsverschiebung übergeht, in der Kontrolle jedoch stärker als im Versuch (Abb. 1 und 2) (S. 42 u. 43).

Bemerkenswert ist der stark erniedrigte $\frac{G}{E}$ Index bei den 24 h- und 48 h-Präparaten mit Kobalt-Ferrlecit^R (Tab. 1).

Der rMI des Versuchs liegt nach 24 und 48 Stunden deutlich über den Werten der Kontrolle, sinkt jedoch nach 72 Stunden auf 0% ab.

Der wMI nimmt im Versuch und in der Kontrolle kontinuierlich ab, ist in der Kontrolle nach 48 und 72 Stunden aber höher als im Versuch.

Tabelle 1

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	7,3		18,0		2,1	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	20,0	31,8	12,9	15,3	1,5	0,96
48 Std.	0	59,0	8,7	2,9	3,4	1,0
72 Std.	19,0	0	5,0	0	1,2	4,8

Fall 2

Lina T., 66 Jahre

Klinische Diagnose:

Linksherzinsuffizienz mit Lungenödem bei
Zustand nach Herzinfarkt und relativer
Mitralinsuffizienz;
Anämie, vermutlich renaler Ätiologie.

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Dolantin^R, Lanicor^R, Terramycin^R, Euphyllin^R

Sternalpunktat vom 7.1.1969:

Angeregte, linksverschobene, normoblastische
Erythrocytopoese, reichliche Eisenspeicherung
im Retikulum sowie stark vermehrte linksver-
schobene Granulocytopoese mit z.T. toxischen
Granulationen.

14.1.1969 Serumeisenspiegel 60 μ g %.

Diff. Blutbild vom 27.12.1968:

Ery.:	3,73 Mill/mm ³	Leuko. :	8.600/mm ³
Hb _E :	27,6 pg	Stab. :	1
Hb :	10,4 g %	Seg. :	55
Anisocyt:	(+)	Lympho.:	38
Poikilocyt:	(+)	Mono. :	3
		AMZ :	3

BSG 42/61

Die Reifungskurve zeigt in der Erythrocytopoese besonders nach 24 h eine starke Verminderung der polychromatischen Erythroblasten im Versuchspräparat gegenüber der Kontrolle.

Die Kurve der Granulocytopoese zeigt nach 24 h eine Linksverschiebung, die sich später ausgleicht (Abb. 3).

In den Versuchen ergibt sich nach 24, 48 und 72 h ein stark erniedrigter $\frac{G}{E}$ Index (Tab. 2).

Nach 24 und 48 Stunden finden wir den rMI des Versuchs gegenüber der Kontrolle stark erhöht, während der wMI in der gesamten Kontrollreihe über den Werten des Versuchs liegt.

Tabelle 2

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	25,0		6,6		2,5	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	8,0	32,0	5,5	0,0	2,1	0,6
48 Std.	0,0	52,0	10,3	2,0	2,5	1,6
72 Std.	0,0	0,0	14,5	3,0	2,7	0,7

Fall 3

Lydia S., 86 Jahre

Klinische Diagnose:

Pneumonie
absolute Arrhythmie
Hyperchrome Anämie

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Lanicor^R, Hydergin^R, Binotal^R

Sternalpunktat vom 28.1.1969

Etwas vermehrte Erythrocytopoese, die rechtsverschoben und normoblastisch ist; Megaloblastoide kommen vor. Plasmazellen sind vermehrt und z.T. atypisch, die Granulocytopoese ist unauffällig. Im Retikulum fast keine Eisenspeicherung. Es wurden einige kleine Tumorzellverbände gesehen, so daß der Verdacht auf eine beginnende Knochenmarkcarcinose geäußert wurde.

Diff. Blutbild vom 18.1.1969

Ery.: 2.56 Mill/mm ³	Leuko.: 5.100 /mm ³
Hb : 9,7 g %	Stab. : 5
Hb _E : 37,8 pg	Seg. : 67
Anisocyt: (++)	Lympho: 24
Tox Granulat: (+)	AMZ : 4

BSG 82/100

In der Erythrocytopoese sehen wir zwischen Kontrolle und Versuch nur geringfügige Abweichungen. Die leichte Linksverschiebung nach 24 h in der Kontrolle ist im Versuch verstärkt, jedoch nach 48 h im Versuch wie in der Kontrolle ausgeglichen.

In der Granulocytopoese zeigt sich in der Kontrolle nach 72 h eine starke Abnahme der reifen Granulocyten, während im Versuch die teilungsfähigen Granulocyten stark ausreifen (Abb. 4).

Der $\frac{G}{E}$ Index ist im Versuch nur nach 48 h halb so groß wie in der Kontrolle (Tab. 3).

Tabelle 3

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	11,0		6,6		3,1	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	12,5	0	23,0	0	2,1	2,9
48 Std.	0	0	5,7	0	2,8	1,4
72 Std.	0	0	4,6	9,5	1,9	2,5

Fall 4

Maria M., 78 Jahre

Klinische Diagnose:

Dekompensierte Herzinsuffizienz
Unklare BSG - Erhöhung bei Leukopenie
und Anämie

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Lanacor^R

Sternalpunktat vom 10.3.1969

Große und kleine Retikulumzellen vermehrt;
Granulocytopoese wenig vermindert;
Erythrocytopoese wenig vermindert,
leicht linksverschoben;
Panmyelopathie mit reaktiver
Retikulumzellvermehrung.

Diff. Blutbild vom 5.3.1969

Ery.: 2.78 Mill/mm ³	Leuko.: 3.000 /mm ³
Hb : 7,9 g %	Stab. : 11
Hb _E : 28,3 pg	Seg. : 80
Anisocyt: (+)	Lympho: 6
	Mono. : 3

Die im Original reichlich vorhandenen polychromatischen Erythroblasten verschwinden nach 24 h völlig im Versuchspräparat, während sie im Kontrollpräparat nur mäßig abnehmen und die Zahl der orthochromatischen noch zunimmt. Bei den Präparaten des Versuchs und der Kontrolle nach 48 h und 72 h bestehen dagegen kaum Unterschiede, da die Reifungskurven der Erythrocytopoese in der Kontrolle auch stark rechtsverschoben sind.

In der Granulocytopoese ist die sehr starke Zunahme der Promyelocyten und Myelocyten und die Abnahme der Jugentlichen, Stab- und Segmentförmigen in dem Versuch gegenüber der Kontrolle nach 24 h auffällig. Nach 48 h und 72 h bleibt die prozentuale Verteilung des 24 h Versuchs ziemlich konstant, während in der Kontrolle nach 24 h eine starke Linksverschiebung einsetzt (Abb. 5).

Nach 24 h und 48 h ergibt sich in der Versuchskultur ein sehr stark verminderter, nach 72 h ein erhöhter $\frac{G}{E}$ Index (Tab. 4).

Tabelle 4

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	14,0		3,0		6,5	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	0	0	8,0	5,7	2,8	1,1
48 Std.	0	0	3,4	1,9	2,8	1,0
72 Std.	0	0	0	0	2,5	3,5

Fall 5

Maria P., 80 Jahre

Klinische Diagnose:

Nichttransmuraler Vorderwandinfarkt,
Lungenemphysem, Hypertonus, Varikosis
beider Beine, Anämie

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Lanicor^R, Cordalin^R, Catapresan^R, Hygroton^R

Sternalpunktat vom 23.12.1968:

Außer einer fehlenden Eisenspeicherung im
Retikulum kein pathologischer Befund.

Diff. Blutbild vom 7.11.1968:

Ery.: 3.56 Mill/mm ³	Leuko.: 9.200 /mm ³
Hb : 11,0 g %	Stab. : 5
Hb _E : 30,9 pg	Seg. : 77
Anisocyt: (++)	Lympho: 12
Tox Granulat: (+)	Mono. : 2
	AMZ : 4

BSG 42/75

Im 24-Stunden-Versuchspräparat imponiert die Abnahme der teilungsfähigen Zellen der Erythrocytopoese, besonders der polychromatischen Erythroblasten (von 42% auf 3%), während in der Kontrolle der Prozentsatz der PE, pE und oE etwa gleichbleibt und der der basophilen Erythroblasten noch zunimmt. Nach 48 und 72 Stunden ist kein Unterschied festzustellen, da auch die Kontrolle stark rechtsverschoben ist.

Die Granulocytopoese zeigt nur bei 24 Stunden eine gewisse Linksverschiebung, die im Versuch stärker als in der Kontrolle ist, sich nach 72 Stunden in Versuch und Kontrolle jedoch ausgeglichen hat (Abb. 6).

Der $\frac{G}{E}$ Index, der nach 24 und 48 Stunden in Versuch und Kontrolle etwa den gleichen Wert hat, beträgt im Versuch nach 72 Stunden nur noch $\frac{1}{5}$ des $\frac{G}{E}$ Index der Kontrolle (Tab. 5).

Tabelle 5

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	6,2		11,8		2,1	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	18,3	8,5	2,7	3,1	1,5	1,3
48 Std.	0	0	0	0	1,8	1,9
72 Std.	0	0	0	0	6,7	1,3

Fall 6

Hedwig S., 78 Jahre

Klinische Diagnose:

Dekompensierte perniciöse Anämie

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Lanicor^R, Complamin^R

Sternalpunktat vom 30.4.1969:

Reichlich große, lymphoide Retikulumzellen, Granulocytopoese im Verhältnis zur Erythrocytopoese etwas linksverschoben, relativ vermindert, reichlich Riesenstäbe. Erythrocytopoese vermehrt, deutlich linksverschoben, vorwiegend Megaloblasten. Mitosen vermehrt vorhanden. Übergangsformen von Retikulumzellen zu Proerythroblasten vertreten.

Diff. Blutbild vom 27.5.1969:

Ery.:	1.84 Mill/mm ³	Leuko. :	3.400 /mm ³
Hb :	7,2 g %	Baso. :	1
Hb _E :	38,2 pg	Eos. :	1
Poikilocyt:	(+)	Seg. :	63
Anisocyt:	(++)	Lympho.:	34
Polychrom:	(+)	Mono. :	1

BSG 48/80

Die Erythrocytopoese ist im Ausgangspräparat stark linksverschoben. Nach 24 Stunden nehmen die pE und die oE mit Co-Zusatz ab, und wir sehen 40% reife Erythroblasten. Von 24 bis 72 Stunden nehmen die teilungsfähigen Erythroblasten weiter gleichmäßig zugunsten der Reifen ab. In der Kontrolle finden wir dagegen erst nach 48 Stunden reife Erythroblasten, die nach 72 h nur 30% (in der Kontrolle 85%) der Gesamtzahl der roten Zellen ausmachen, während die teilungsfähigen Vorstufen in den drei Kontrollen dominieren.

Die Reifungskurven der Granulocytopoese sind wie bei perniziöser Anaemie zu erwarten: abgeflacht und in der Versuchskultur nur nach 48 h linksverschoben (Abb. 7).

Der $\frac{G}{E}$ Index ist für ein Megaloblastenmark ungewöhnlich hoch. Zu beachten ist der $\frac{G}{E}$ Index bei 48 h, der in dem Versuch nur $\frac{1}{9}$ des $\frac{G}{E}$ I der Kontrolle beträgt (Tab. 6).

Tabelle 6

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	15,0		5,3		4,6	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	37,0	52,0	1,5	4,0	8,0	7,9
48 Std.	0	0	0	5,0	11,1	1,3
72 Std.	0	0	0	0	5,2	3,8

Fall 7

August B., 79 Jahre

Klinische Diagnose:

Lebercirrhose, unklare Anämie,
hämorrhagische Diathese

Medikation vor dem Sternalpunktat:

Digitoxin^R, Mixt. pepsin RF

Sternalpunktat vom 10.1.1969:

Akute unreifzellige Leukämie,
atypische Myeloblasten mit zugunsten
des Plasmas verschobener Kern-Plasma-
Relation. Erythrocytopoese gegenüber
der Granulocytopoese hochgradig zurück-
gedrängt.

Diff. Blutbild vom 10.1.1969:

Ery.:	1.84 Mill/mm ³	Leuko. :	6.150/mm ³
Hb :	6,0 g %	Myelobl. :	11
Hb _E :	32,1 pg	Promyelo.:	8
Anisocyt:	(+++)	Myelo. :	8
Poikilocyt:	(++)	Metamyelo:	7
Polychrom:	(++)	Stab. :	19
Tox Granulat:	(+)	Seg. :	7
		Lympho. :	13
		AMZ :	27

BSG 68/114

Im Original überrascht in der Erythrocytopoese der hohe Prozentsatz der Proerythroblasten und der Basophilen und der geringe Anteil der reifen Stufen. Nach 24 Stunden nehmen die Proerythroblasten im Versuch prozentual sogar noch etwas zu. Einmalig bei diesem Patienten ist das vermehrte Auftreten von teilungsfähigen Vorstufen in der Erythrocytopoese nach 24 und 48 Stunden im Versuch gegenüber der Kontrolle. Die 72-Stunden-Präparate können nicht verglichen werden, da das Kontrollpräparat wegen Zelldetritus nicht auswertbar war.

In der Granulocytopoese nimmt die ohnehin schon hohe Zahl der Myeloblasten bis zu 48 Stunden in der Kontrolle auf Kosten der reifen Zellen zu. Im Versuch geht dagegen die Zahl der Myeloblasten bis zu 48 Stunden ständig zurück, und die Zahl der Promyelocyten steigt im gleichen Maße. Die restliche Zellverteilung entspricht fast der des Originals (Abb. 8).

Bemerkenswert hoch ist der $\frac{G}{E}$ Index der Kontrolle bei 48 h. Der $\frac{G}{E}$ Index des Versuchs liegt zum selben Zeitpunkt erheblich niedriger (Tab. 7).

Tabelle 7

	r M I		w M I		$\frac{G}{E}$ I	
Original	62,5		18,6		10,7	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	62,0	79,0	22,0	3,5	4,6	7,8
48 Std.	0	0	4,5	9,4	28,0	7,4
72 Std.	0	0	0	2,8	0	14

B. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Da sich bei Fall 1 - 6 gleiche Tendenzen in der Erythrocytopoese und in der Granulocytopoese ergeben, können diese Ergebnisse in je einer Reifungskurve zusammengefaßt werden (Abb. 9). Fall 7 wird nicht miteinbezogen, da der Verlauf der akuten unreifzelligen Leukämie in vitro völlig von den anderen Versuchen abweicht und die Ergebnisse dadurch verfälscht würden.

In der morphologischen Differenzierung kann kein Unterschied zwischen den Kontrollen und den Versuchen festgestellt werden. Nach 24 und 48 Stunden zeigt sich im Versuch und in der Kontrolle keine Pyknose oder Vakuolisierung. Die Mitosephasen sind ebenfalls normal. Erst nach 72 Stunden finden sich in den Präparaten des Versuchs und der Kontrolle stellenweise Zellen mit pyknotischen Kernen und vakuolisiertem Zellplasma.

Das Verhältnis zwischen der Gesamtzahl der Granulocyten und der Erythroblasten, ausgedrückt im $\frac{G}{E} I$, ändert sich in der Kontrollreihe nur geringfügig (Max. Abweichung $\pm 0,5$) (Tab. 8). Es tritt also keine starke Vermehrung oder Verminderung der Zellen der Granulocytopoese bzw. der Erythrocytopoese ein.

In der Versuchsreihe kommt es nach 24 Stunden zu einem steilen Anstieg der Gesamtzahl der Erythroblasten; der $\frac{G}{E} I$ sinkt um fast 50%. Einen fast gleichen $\frac{G}{E} I$ finden wir auch nach 48 Stunden, Erst nach 72 Stunden verschiebt sich das Verhältnis wieder zugunsten der Zellen der Granulocytopoese; der $\frac{G}{E} I$ steigt an und liegt nur wenig unter dem $\frac{G}{E} I$ der Kontrolle nach 72 Stunden (Tab. 8) (S. 30).

In der Erythrocytopoese zeigt sich bei der Kontrolle bis zu 48 Stunden eine kontinuierliche Abnahme der teilungsfähigen Zellen zugunsten der reifen Erythroblasten. Bis zu 24 Stunden sind von dieser Abnahme besonders stark die polychromatischen Erythroblasten, dann nach 48 Stunden auch die basophilen Erythroblasten betroffen.

Die Zellmultiplikation ist nach 24 Stunden leicht gesteigert, ausgedrückt im erhöhten rMI. Nach 48 Stunden sinkt der rMI auf 0‰ und erhöht sich nach 72 Stunden noch einmal leicht (Tab. 8).

Bei dem FeCo-Zusatz kommt es in der Erythrocytopoese nach 24 Stunden zu einer kräftigen Rechtsverschiebung. Dabei sinkt besonders stark der Anteil der basophilen und der polychromatischen Erythroblasten, während die Zahl der reifen Erythroblasten sprunghaft zunimmt (Abb. 10). Die nach 24 Stunden beobachtete Verteilung aller Reifungsstufen der Erythrocytopoese ändert sich nach 48 Stunden und 72 Stunden (Max. Abweichung $\pm 3\%$) nur unwesentlich (Abb. 9).

Der rMI erhöht sich nach 24 Stunden bei FeCo-Zusatz deutlich (+ 6,4‰, Abweichung gegen den jeweiligen Wert der Versuchsreihe.). Die Zellmultiplikation ist folglich gesteigert. Nach 48 Stunden ist der rMI wieder gesunken (+ 12,5‰, Abweichung gegen den jeweiligen Wert der Versuchsreihe.), liegt aber nur wenig über dem Ausgangswert und fällt erst nach 72 Stunden auf 0‰ ab (- 4,1‰, Abweichung gegen den jeweiligen Wert der Versuchsreihe.) (Tab. 8). Der Unterschied in der Anzahl der einzelnen Zellarten der Erythrocytopoese zwischen Versuch und Kontrolle ist statistisch signifikant (Tab. 11, 12, 13).

In der Granulocytopoese ist die Zahl der teilungsfähigen und der reifen Zellen in den Originalausstrichen im Mittel gleich groß (Tab. 10). In der Kontrolle kommt es nach 24 Stunden zu einer mäßigen Linksverschiebung. Die teilungsfähigen Granuloblasten nehmen im gleichen Maße zu, wie die reifen Zellen abnehmen (Tab. 10, Abb. 11). Nach 48 Stunden bleibt die Anzahl der teilungsfähigen Zellen etwa gleich, während die Zahl der reifen Zellen kleiner wird. Nach 72 Stunden ändert sich das Verhältnis nicht. Der wMI erhöht sich nach 24 Stunden leicht, fällt nach 48 Stunden um einen geringen Betrag und bleibt bis zu 72 Stunden etwa gleich.

Bei FeCo-Zusatz kommt es nach 24 Stunden zu einer stärkeren Linksverschiebung der Granulocytopoese als in der Kontrolle, die jedoch bis zu 72 Stunden in eine leichte Rechtsverschiebung übergeht.

Die teilungsfähigen Zellen nehmen also insgesamt bis zu 72 Stunden relativ ab und die Anzahl der reifen Granulocyten verhältnismäßig zu, so daß im 72-Stunden-Präparat der Kontrolle und des Versuchs eine fast gleiche Verteilung von teilungsfähigen und reifen Granulocyten festzustellen ist. Auch in der prozentualen Verteilung aller Reifungsstufen wird eine starke Ähnlichkeit beider Präparate sichtbar.

Die Zellmultiplikation nimmt im Versuch von 24 Stunden bis zu 72 Stunden kontinuierlich ab, ausgedrückt im stetig sinkenden wMI von 6,6% auf 0,9% (Tab. 8).

Die Unterschiede in der Anzahl der einzelnen Reifungsstufen der Granulocytopoese zwischen Versuch und Kontrolle sind nach 24 Stunden und 48 Stunden signifikant (Tab. 14, 15). Nach 72 Stunden kann keine Signifikanz festgestellt werden (Tab. 16).

Die Tabellen 8, 9 und 10 stellen die Mittelwerte der Fälle I - VI dar.

Tabelle 8

	$\frac{G}{E}$ I		r M I		w M I	
Original	2,9		12,9		6,6	
	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.	Kontr.	Vers.
24 Std.	2,4	1,5	15,6	22,2	9,2	5,4
48 Std.	2,9	1,4	0	12,5	4,8	2,4
72 Std.	2,6	2,3	4,1	0	4,0	1,4

Tabelle 9

Index: teilungsfähige Zellen der Erythrocytopoese
reife Zellen

Original	2,6	
	Kontrolle	Versuch
24 Std.	1,0	0,18
48 Std.	0,24	0,13
72 Std.	0,20	0,16

Tabelle 10

Index: teilungsfähige Zellen der Granulocytopoese
reife Zellen

Original	1	
	Kontrolle	Versuch
24 Std.	2	2,6
48 Std.	1,7	2,1
72 Std.	1,7	1,6

C. Signifikanzberechnung

Die Ergebnisse aus Versuchsreihe und Kontrollreihe prüfen wir nach dem χ^2 -Test von HELMERT-PEARSON auf Signifikanz (9).

Es bedeuten:

a = Zellzahl der Kulturen mit Kobalt-Ferrlecit^R.

b = Zellzahl in den Kontrollkulturen

$$m = \frac{a + b}{2}$$

= Differenz a - m (absoluter Wert)

$$\chi^2 = \text{Summe der Einzelergebnisse } \frac{\Delta^2}{m}$$

Bei zu großen Differenzen in den Summen von a und b wird der Faktor $\frac{\text{Summe a}}{\text{Summe a} + \text{Summe b}}$ mit der Summe der einzelnen Zellformen (a + b) multipliziert.

Für die zehn verschiedenen Zellformen der Granulocytopoese liegt die Signifikanz bei $\chi^2 = 20$, in der Erythrocytopoese mit fünf Reifungsstufen bei $\chi^2 = 13$ mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von jeweils 1%.

Erythrocytopoese

Tabelle 11

24 Stunden:

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	60	50	63	3	0,1
bE	130	300	247	117	55,4
pE	110	345	262	152	86,5
oE	57	126	105	48	21,9
rE	1870	831	1553	317	63,9
Summe	2227	1652			$\chi^2 = 227,8$

Tabelle 12

48 Stunden:

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	59	27	53	6	0,7
bE	63	67	80	17	3,6
pE	82	101	113	31	7,5
oE	36	67	63	27	11,6
rE	1920	1082	1845	75	3,1
Summe	2160	1342			$\chi^2 = 27,5$

Tabelle 13

72 Stunden

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	12	12	13	1	0
bE	101	76	94	7	0,5
pE	43	116	84	41	20,2
oE	49	37	45	4	0,4
rE	1345	1136	1315	30	0,7
Summe	1550	1377			$\Sigma^2 = 21,8$

Granulocytopoese

Tabelle 14

24 Stunden:

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	4	9	5,9	1,9	0,6
PM	722	713	652	70	7,5
MC	1097	1049	977	80	6,5
eMC	330	181	278	52	9,7
MM	271	269	246	25	2,5
StG	385	401	358	27	2,0
SG	515	781	590	75	9,5
eSG	150	174	147	3	0
PMo	3	4	3,5	0,5	0
Mo	2	3	2,5	0,0	0
Summe	3339	3972		$x^2=38,3$	

Tabelle 15

48 Stunden:

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	8	11	8,2	0,2	-
PM	660	781	619	41	0,3
MC	982	1314	986	4	-
eMC	204	287	211	7	0,2
MM	233	223	196	37	6,9
StG	268	384	324	44	6,0
SG	513	861	590	77	12,5
eSG	128	233	153	25	4,1
PMo	11	-	5	6	8,0
Mo	2	-	1,0	1,0	1,0
Summe	3109	4173		$x^2 = 39,1$	

Tabelle 16

72 Stunden:

Zellart	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	9	7	8	1	0,1
PM	542	564	533	11	0,2
MC	1096	1193	145	49	2,1
eMC	304	173	238	66	1,8
MM	233	316	275	42	0,6
StG	308	314	311	3	-
SG	781	640	710	71	7,1
eSG	157	302	230	73	2,3
PMo	20	26	23	3	0,4
Mo	2	2	1	1	1,0
Summe	3450	3535		$x^2=15,8$	

Die Veränderung der Mitoseindices ist wegen der zu geringen Anzahl statistisch nicht signifikant.

IV. DISKUSSION

Wir verwenden in unserer Versuchsreihe ein Komplexsalz, das als wesentlichen Bestandteil Co und Fe enthält. Auswirkungen auf menschliches Knochenmark in vitro können wir jedoch allein dem Co zuschreiben, da Eisen unter der gleichen Versuchsanordnung keinen pharmakologischen Effekt zeigt (11).

In der morphologischen Differenzierung zeigt sich kein Unterschied zwischen den Zellen der Versuchspräparate und der Kontrollen. Die Pyknose der Zellkerne, die Vakuolisierung des Zellplasmas und die stärkere Zerstörung einzelner Zellen nach 72 Stunden entspricht dem Kulturverlauf in vitro. Ein toxischer Effekt bei einer Dosis von 0,03 μ /ml Co und 1,25 μ /ml Fe, beides organisch verbunden, kann also nicht festgestellt werden.

Unter dem Einfluß von Co finden wir nach 24 und 48 Stunden einen stark verminderten $\frac{G}{E}$ I gegenüber der Kontrolle. Der relative Anteil der Erythroblasten ist folglich stark vermehrt.

Die rMI des Versuchs liegen nach 24 und 48 Stunden deutlich, wenn auch wegen der zu kleinen Zahl nicht signifikant, über denen der Kontrolle. Folglich ist eine vermehrte Regeneration der Erythrocytopoese unter Co-Einfluß anzunehmen. Trotz dieser gesteigerten Regeneration steht der Rechtsverschiebung in der Kontrolle nach 24 Stunden eine erheblich stärkere Rechtsverschiebung bei Kobalt-Ferrlecit^R-Zusatz gegenüber (Abb. 9 und 10), d.h. durch starke Stimulation der Reifung der Erythroblasten nimmt unter dem Einfluß von Co die Zahl der teilungsfähigen Erythroblasten stark ab. Der Reifungsstimulus betrifft die basophilen, polychromatischen und ortho-

chromatischen Erythroblasten, während die Zahl der reifen Erythroblasten sprunghaft zunimmt (Abb. 10). Da die letzte Reifungsstufe der Erythrocytopoese stark gehäuft ist, scheint die Entkernung der reifen Erythroblasten bei dem angeregten Reifungsvorgang nicht mit einbegriffen. Erst nach 72 Stunden sinkt die Zahl der Erythroblasten, der $\frac{G}{E}$ I erhöht sich, der rMI beträgt 0%. Die prozentuale Verteilung aller Erythroblasten hat sich aber bei Kobalt-Ferrlecit^R-Zusatz gegen die Werte nach 48 Stunden nur wenig geändert (max. Abweichung $\pm 2\%$).

Neben einer möglichen Wirkung auf die Erythropoetinbildung oder -ausschüttung hat Co also cytobiologische Eigenschaften, aufgrund derer es die Regeneration und Reifung der basophilen, polychromatischen und orthochromatischen Erythroblasten in vitro zu stimulieren vermag. Hiermit stimmen wir in etwa mit den Ergebnissen von ASTALDI und MEARDI überein, die jedoch nur einen Reifungsstimulus - keine Regenerationssteigerung - auf die basophilen Erythroblasten beobachten konnten (2). Weiter werden diese Ergebnisse noch durch Versuche von HERBERT und ADAMSON gestützt, die eine gesteigerte Hämoglobinsynthese in Kaninchenreticulocyten feststellten (10). Inwieweit diese direkte Wirkung von Kobalt auf einer möglichen Empfindlichkeitssteigerung von Knochenmarkzellen gegen Erythropoetin beruht (WOLTERS 26), kann nicht geklärt werden.

In der Kontrolle ist die Zunahme des teilungsfähigen Anteils der Granulocytopoese neben deren Vermehrung durch Zellteilung durch die Abnahme der reifen Zellen zu erklären (BOLL 4). Die ohnehin kurzlebigen und empfindlicheren reifen Zellen scheinen am Beginn der Kultivierung zum großen Teil abzustarben. Nach 48 Stunden sind jedoch weitere Granulocyten ausgereift, und das Verhältnis ändert sich zugunsten der reifen Zellen. Die Ausreifung scheint nun konstant zu bleiben, denn nach 72 Stunden hat sich an dieser Verteilung nichts

geändert, nur die Gesamtzahl der Granulocyten hat nach der Abb. 11 wieder leicht abgenommen. Die reifen Granulocyten jedoch erreichen in der Kultur nach 72 Stunden nicht die Anzahl wie im Originalausstrich (Abb. 11).

Nach Kobalt-Ferrlecit^R-Zusatz werden die reifen Granulocyten bis zu 24 Stunden stärker vermindert als in der Kontrolle, in der das Verhältnis der teilungsfähigen zu den reifen Zellen 2,0 : 1 beträgt, im Versuch hingegen nur 2,6 : 1 (Tab. 10). Nach 24 Stunden sehen wir bei Kobalt-Ferrlecit^R-Gabe also eine leichte Rechtsverschiebung der Kurven - d.h. eine Zunahme der unreifen Zellen -, die bis zu 72 Stunden anhält. Da aber der wMI nach 24, 48 und 72 Stunden bei Kobalt-Ferrlecit^R-Zusatz erniedrigt ist, muß die Regeneration reduziert sein. Ein toxischer Einfluß von Kobalt auf die reifen Granulocyten ist also möglich. Im ganzen ist die Proliferation der Granulocytopoese durch Kobalt weniger beeinflußt als die Erythrocytopoese. In der Literatur ist die Beeinflussung der Regeneration und Reifung der Granulocytopoese durch Kobalt jedoch in keinem Fall beschrieben worden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgrund von Differentialzählungen einschließlich der Mitosen im Originalausstrich und in Koagulumkulturen von sieben Patienten mit pathologisch verändertem Knochenmark wird bei 60 000 ausdifferenzierten Zellen eine statistisch signifikante Stimulierung der Reifung und eine vermehrte Regeneration der basophilen, polychromatischen und orthochromatischen Erythroblasten durch Kobalt festgestellt.

Eine leichte Hemmung der Proliferation der Granulocytopoese durch Kobalt muß in Betracht gezogen werden.

VI. ABBILDUNGEN

Die Abbildungen 1 - 9 stellen Reifungskurven dar. Dabei wird auf der Abszisse der prozentuale Anteil der einzelnen Reifungsstufen der Erythrocytopoese bzw. Granulocytopoese fortlaufend aufgetragen. Auf der Ordinate wird die Zeit in Stunden (h) angegeben.

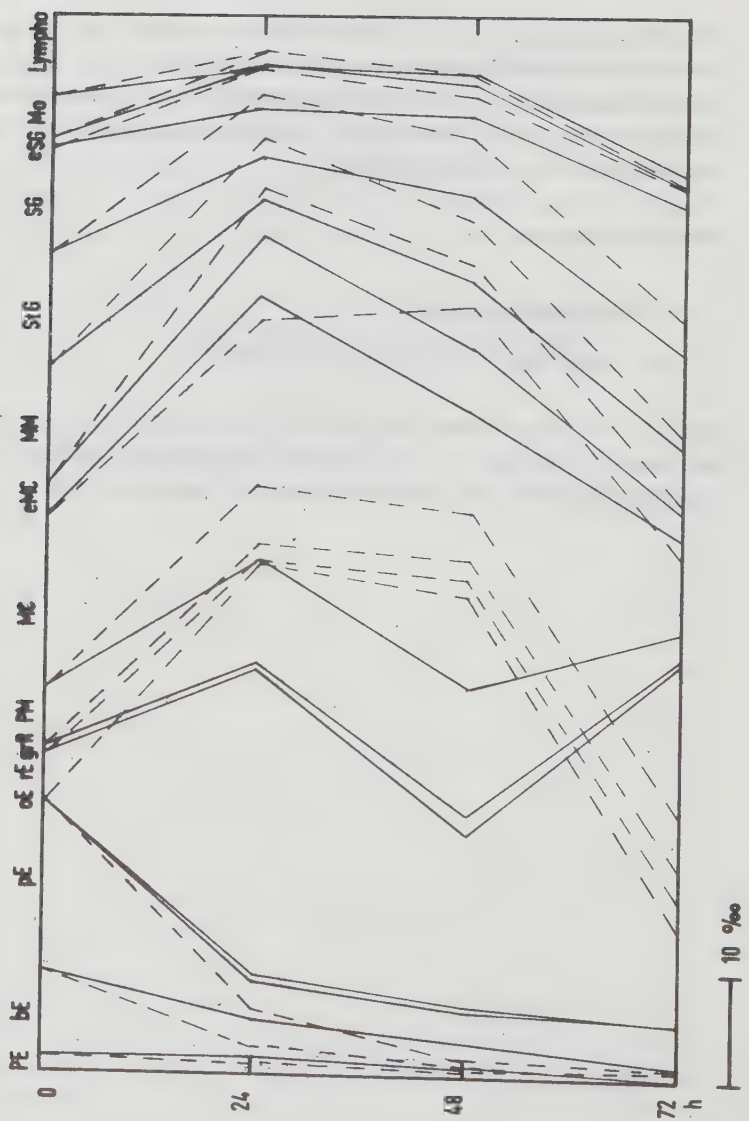
Dabei bedeuten:

———— Kontrollkulturen

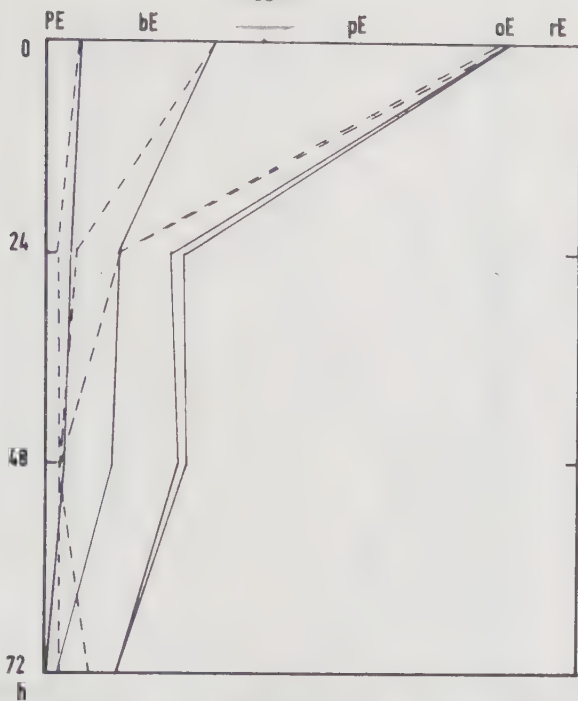
----- Kulturen mit Kobalt-Ferrlecit^R

Abb. 1 gibt die Verteilung aller Zellarten in % von Fall 1 an; die Abbildungen 2 - 9 stellen die Reifungskurven der Erythrocytopoese und Granulocytopoese getrennt dar.

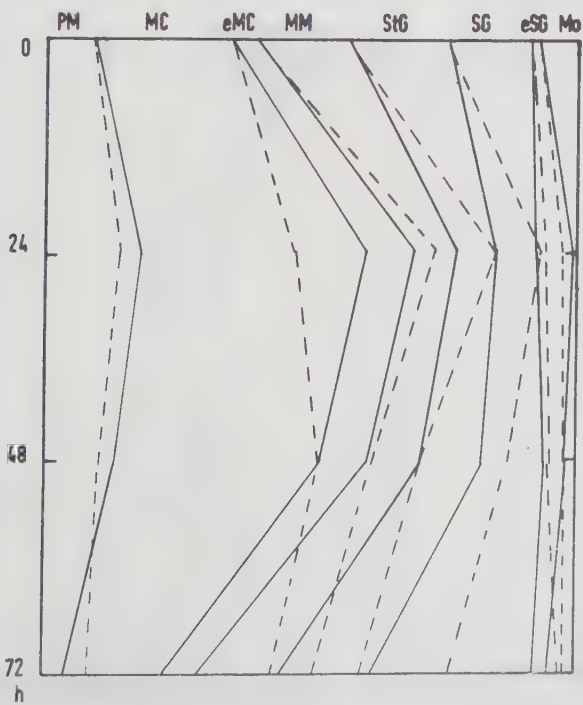
FALL I
 VERTEILUNG ALLER ZELLARTEN IN ‰
 ABB. 1



ERYTHROCYTOPOESE



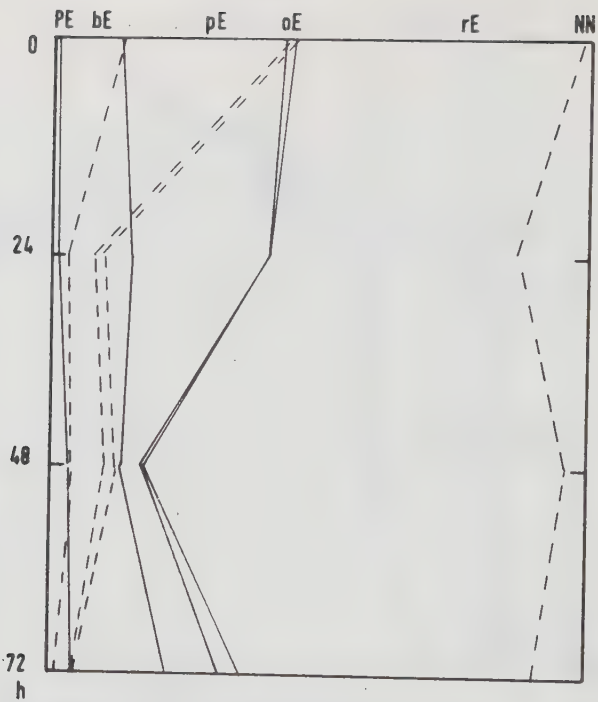
GRANULOCYTOPOESE



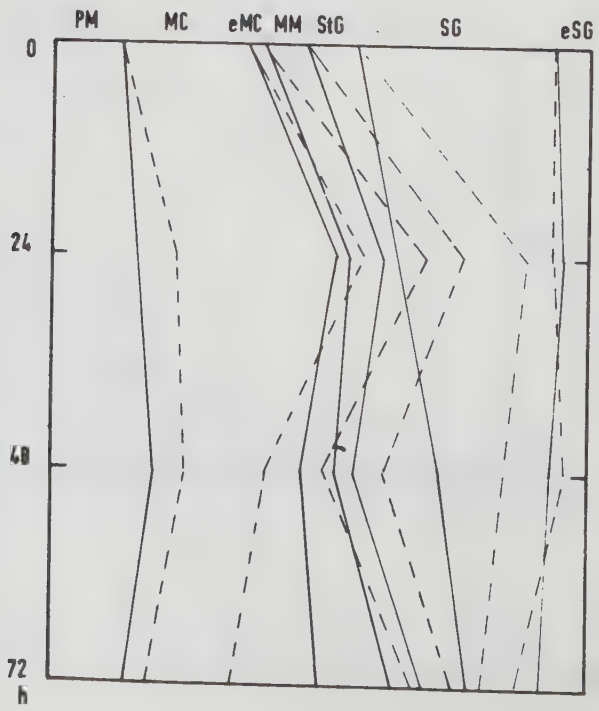
FALL II

ABB.

ERYTHROCYTOPOESE



GRANULOCYTOPOESE



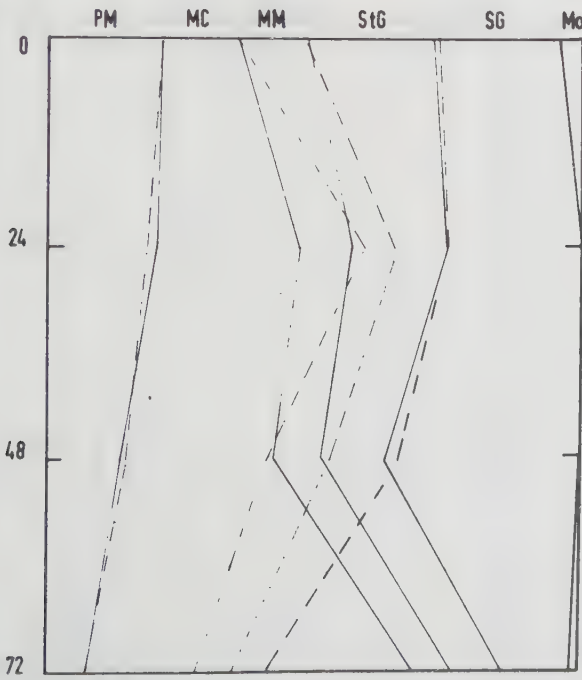
FALL III

ABB. 4

ERYTHROCYTOPOESE
h

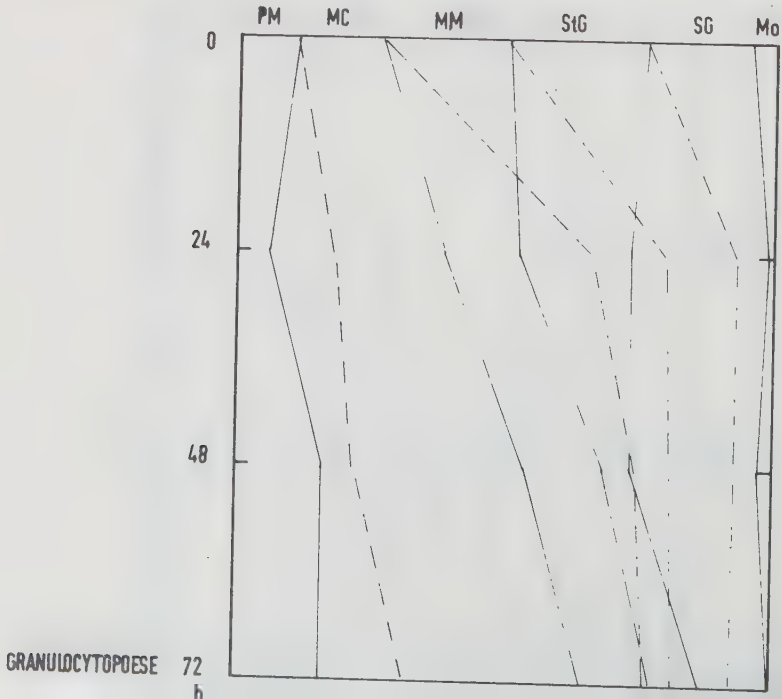
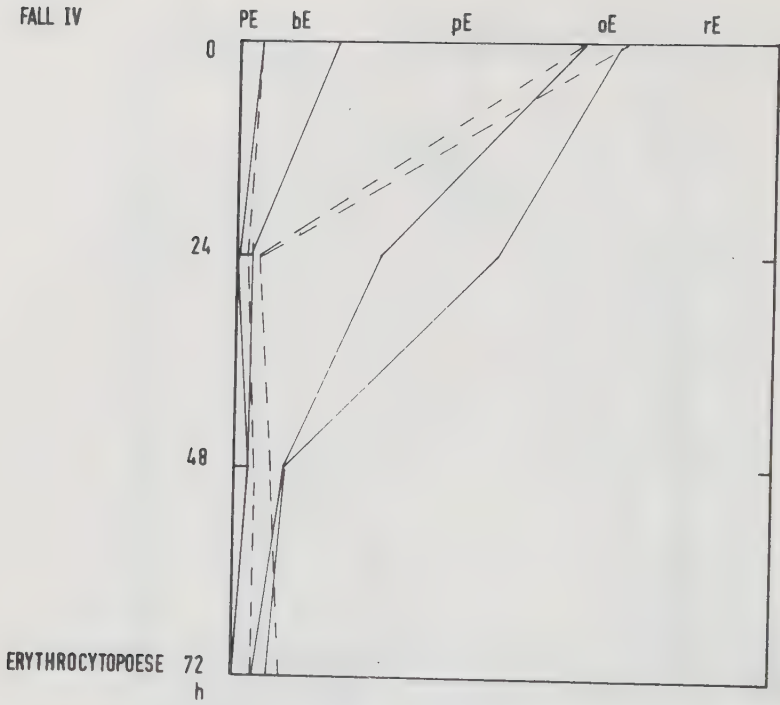


GRANULOCYTOPOESE



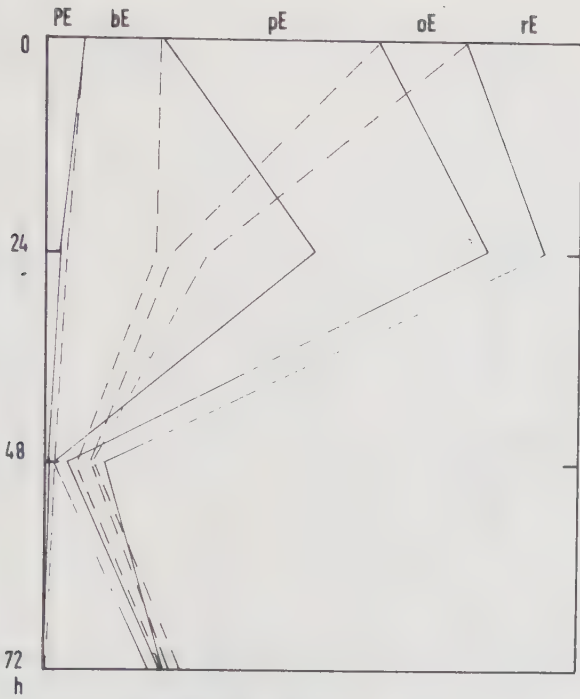
FALL IV

ABB.

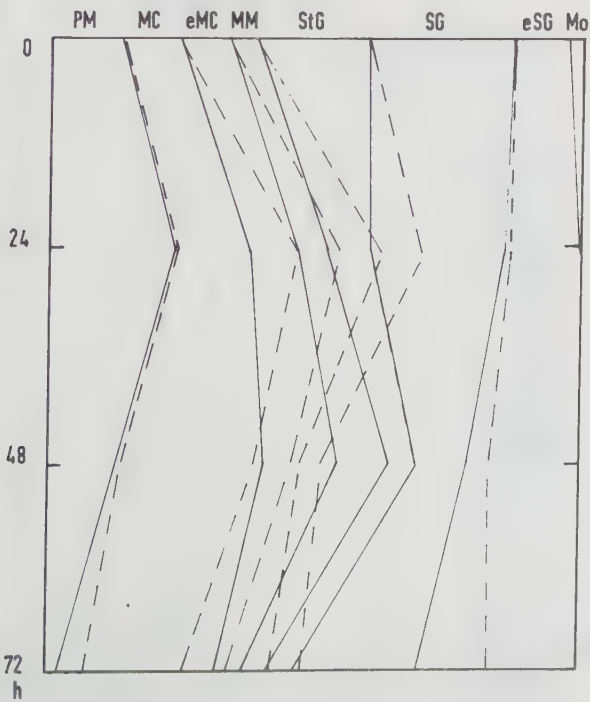


FALL V

ABB. 6



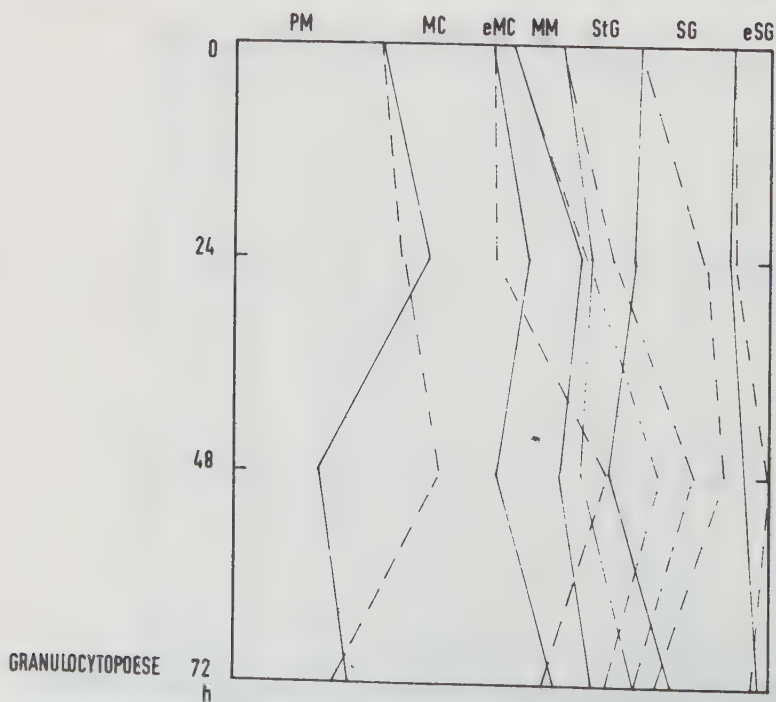
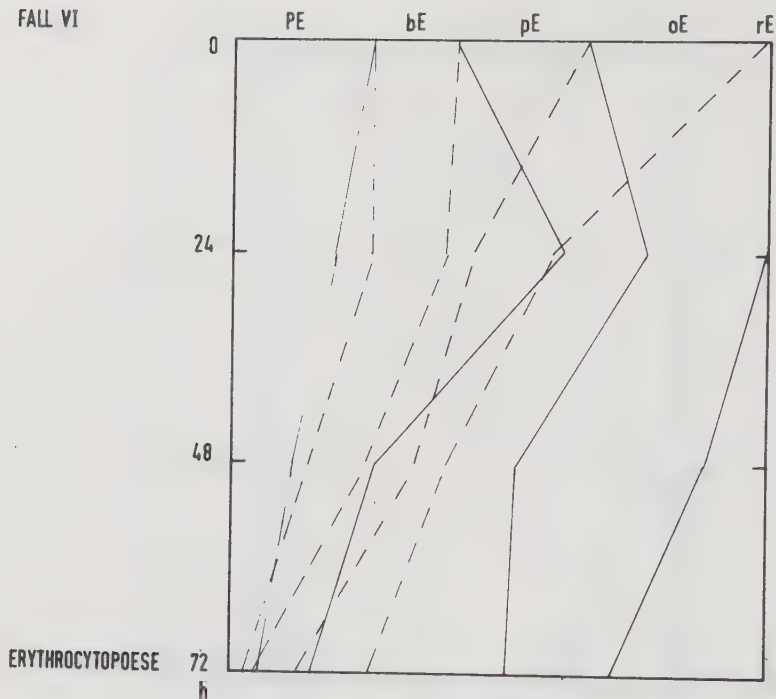
ERYTHROCYTOPOESE



GRANULOCYTOPOESE

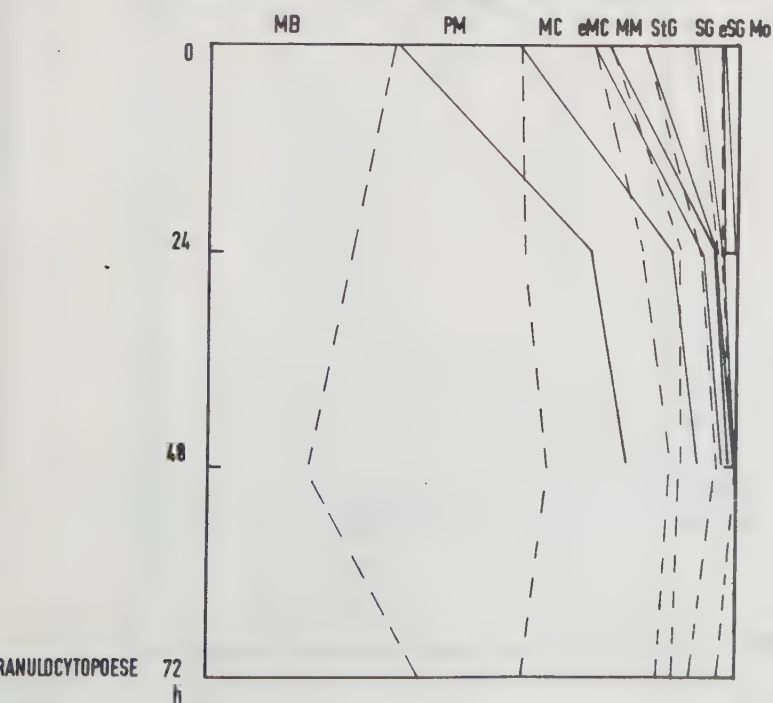
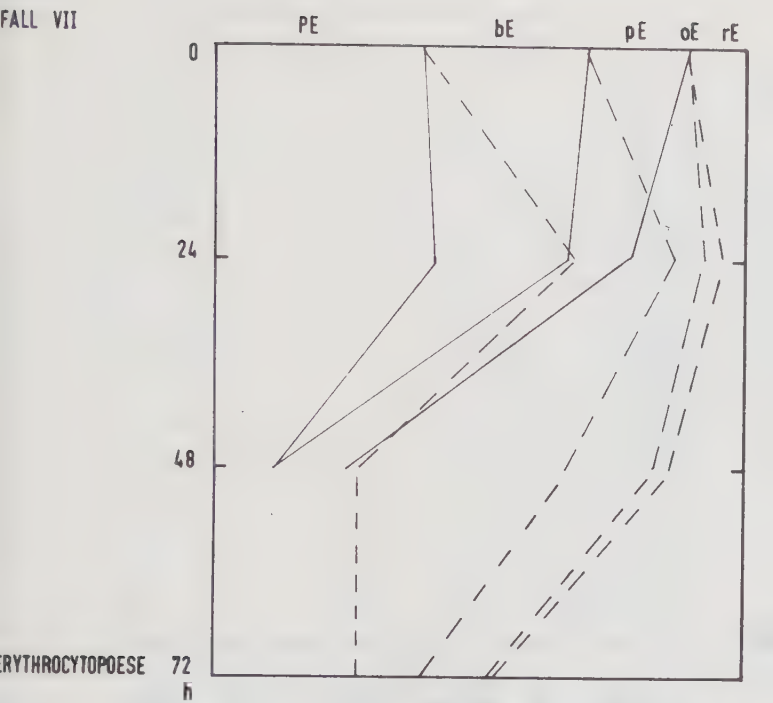
FALL VI

ABB. 7



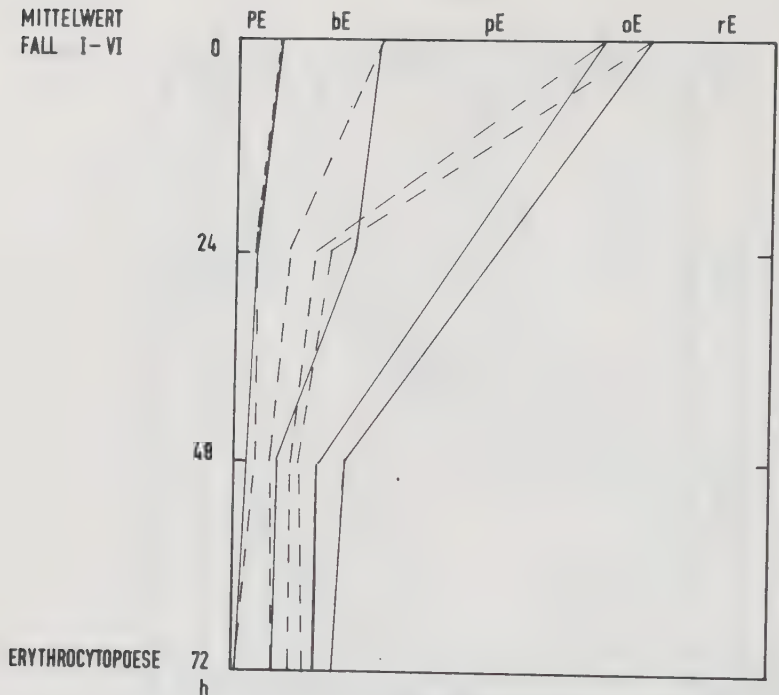
FALL VII

ABB. 8

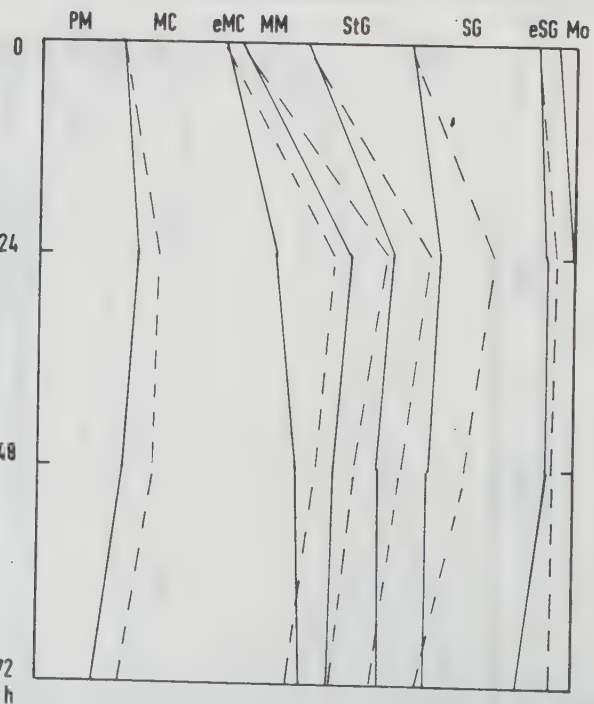


MITTELWERT
FALL I-VI

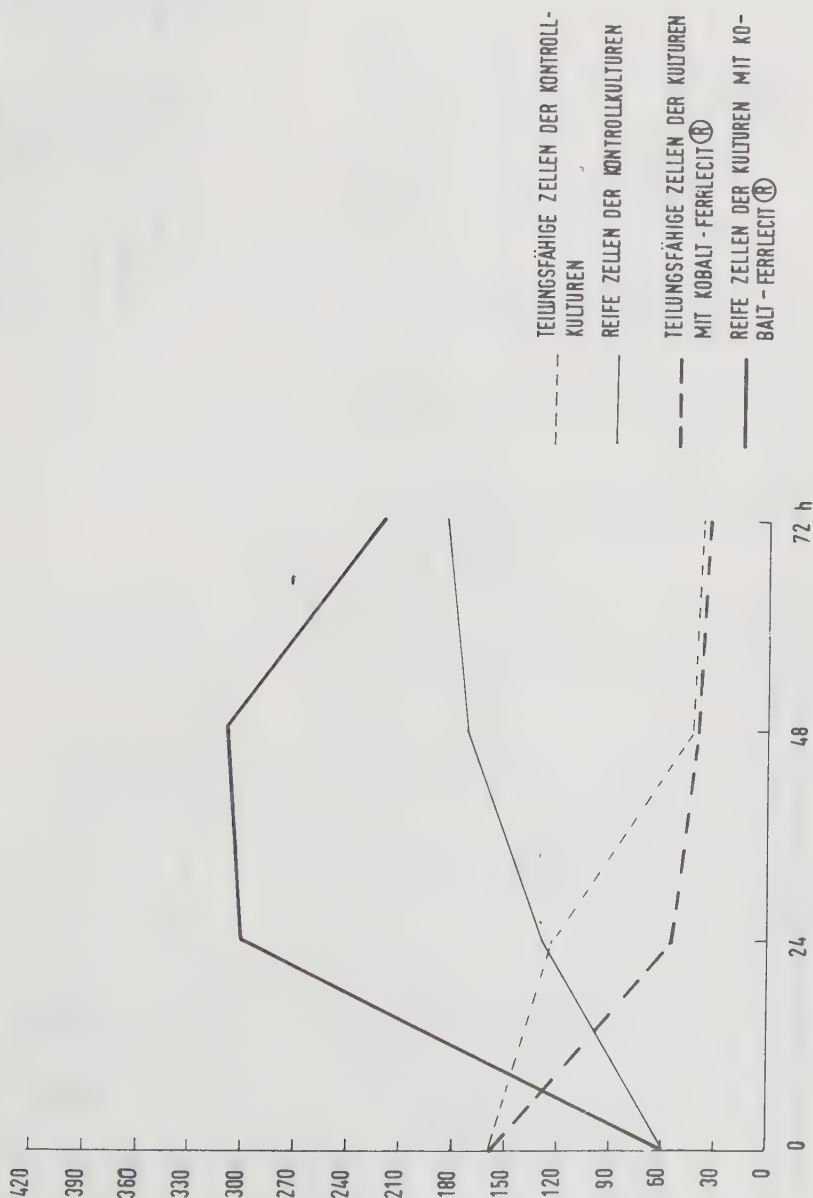
ABB. 9



ERYTHROCYTOPOESE

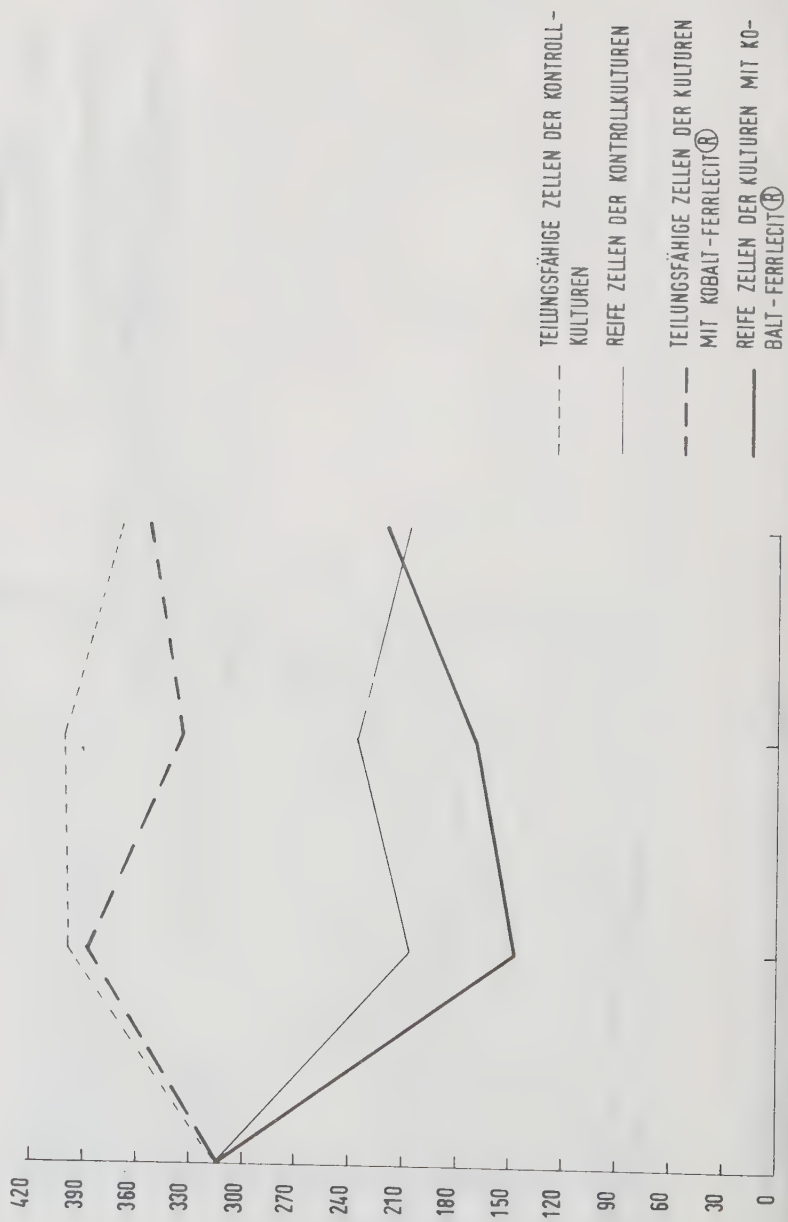


GRANULOCYTOPOESE



MITTELWERT DER VERTEILUNG VON TEILUNGSFÄHIGEN UND REIFEN ZELLEN DER GRANULOCYTOPOESE
IN ‰ DER INSGESAMT PRO PRÄPARAT AUSGEZÄHLTEN ZELLEN

ABB. 11



LITERATURVERZEICHNIS

1. ANDERSON, H.D.,
E.J. UNDERWOOD and
C.A. ELVEHJEM Factors affecting the maintenance
of cobalt Polycythemia in the rat.
Amer. J. Physiol. 130, 373 (1940)
2. ASTALDI, G. und
G. MEARDI Der Effekt von intravenös injizier-
tem Kobalt auf die Reifung der
embryonalen Erythroblasten.
Med. Mschr. 3, 7 (1958)
3. BOLL, I. Morphologische Studien zum Verhal-
ten von Knochenmarkzellen in vitro.
I. Granuloblastenmitosen.
Folia haemat. 3, 58 (1958)
4. BOLL, I. Granulocytopoese unter physiolo-
gischen und pathologischen Bedin-
gungen.
Springer Verlag, Heidelberg (1966)
5. BOLL, I. Morphologische Untersuchungen zur
Proliferationskinetik der normalen
und pathologischen Erythrocytopo-
ese in vitro.
Blut XVII 193 (1968)
6. BOLL, I. und
G. MERSCH Morphologische Untersuchungen zur
Proliferationskinetik der normalen
und pathologischen Granulocytopo-
ese in vitro.
Blut XIX 5, 257 (1969)
7. BRECHER, G. and
F. STOHLMANN Humoral Factors in Erythropoiesis
L. Tocantins (ed.) Progr. in
Hemat. 2, New York (1959)
8. DITTRICH, H. Kobalt in der Behandlung hypo-
chromer Anämien.
Schweiz. med. Wschr. 52, 1296 (1951)
9. GEIGY, J., R. Geigy documenta. Wissenschaftliche
Tabellen, Basel 1960
10. HERBERT, E. und
ADAMSON, St. Effect of cobalt on protein
synthesis in reticulocytes.
Symp. Erythrop. Prag (1970)
11. KEHR, W. Med. Diss. FU Berlin (im Druck)

12. LOHMANN, A.J. Zum Einfluß von Kobalt auf die Blutbildung.
Verhandlg. d. 8. Kongr. d. Europ. Gesellsch. f. Hämatol. Wien (1961)
13. MEARDI, G. Experimentelle Untersuchungen über die hämatopoetische Wirkung von Kobalt.
Therap. Rdsch. 15, 387 (1958)
14. MARSHALL, M. Antianemic Treatment in Experimental Polycythemia.
Amer. J. Physiol. 114, 194 (1935/36)
15. MARSTON, H.R. et. al. Cobalt and Copper in Ruminant Nutrition.
Nature (London) 141, 398 (1938)
16. ROTHLIN, E.,
E. UNDRITZ und
K. ZEHNDER Die tierexperimentellen Grundlagen der therapeutischen Anwendung von Kobalt, Kupfer und Eisen bei bestimmten Anämien.
Schweiz. Med. Wschr. 51/52, 86 (1956)
17. SELINGER, H. Neue Erkenntnisse über den Wirkungsmechanismus von Kobalt-Eisen und dessen klinische Bedeutung.
Ref. a. Kongr. Zbl. f. d. ges. Inn. Med. u. ihre Grenzgeb. 173, 179 (1957)
18. THEDERING, F. Ist die Kobalt-Eisen Therapie heute noch indiziert?
Med. Welt 36, 3 (1967)
19. WALTNER, K. und
K. WALTNER Über die Wirkung einiger Metalle.
Arch. exper. Path. 141, 123 (1929)
20. WEIßBECKER, L. Spurenstoffe bei der Blutbildung.
Klin. Wschr. 27, 39 (1949)
21. WEIßBECKER, L. Kobalt als Spurenelement und Pharmakon.
Wiss. Verlagsges. Stuttgart (1950)
22. WEIßBECKER, L. Die Kobalttherapie.
Dtsch. med. Wschr. 75, 116 (1950)

23. WEISBECKER, L. und
MAURER, R. Kobaltwirkung am Menschen.
Klin. Wschr. 24/25, 855 (1947)
24. WÖHLER, F. und
D. EMRICH Tierexperimentelle Untersuchun-
gen zur Kobaltwirkung auf den
Eisenstoffwechsel.
Arch. exper. Path. u. Pharmakol.
229, 92 (1956)
25. WOLFF, H. Kobaltwirkung auf die Hämatopoese.
Klin. Wschr. 15/15 (1950)
26. WOLTERS, H.-G. Zur Wirkung von Kobalt auf die
Erythropoese.
Blut XXI, 1, 105 (1970)

Frau Professor Dr. med. J. B o l l danke ich für
die Überlassung des Themas und ihre stets hilfreiche
Unterstützung bei der Auswertung meiner Untersuchungen.



LEBENS LAUF

Geboren am 28. Oktober 1943 in Bevergen/Westf.

Von 1954 - 1964 Besuch der Volksschule Bevergen und des Gymnasiums Dionysianum Rheine. Reifeprüfung im Februar 1964.

Beginn des Studiums der Zahnheilkunde im Sommer 1964 an der Universität Köln.

Von Oktober 1964 bis Oktober 1965 Wehrdienst.

Fortsetzung des Studiums im Winter 1965/66 an der Freien Universität Berlin. Dort zahnärztliche Vorprüfung im Herbst 1967 und zahnärztliche Prüfung im Sommer 1970.

Seit September 1970 wissenschaftlicher Assistent der Chirurgischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten.

Lebenslauf

Geboren am 28. Oktober 1911 in Gersdorf, Weim.

Von 1921 - 1924 Besuch der Volksschule Gersdorf und
des Gymnasiums Dornburg. Weim. Weim.
Fahren 1924.

Beginn des Studiums der Rechtswissenschaften im Sommer 1924 an
der Universität Köln.
Von Oktober 1924 bis Oktober 1925 Weim.
Fortsetzung des Studiums in Weim. Weim.
Weim Universität Weim. Weim.
Weim in Weim 1927 und Weim.
Sommer 1930.

Seit September 1930 wissenschaftlicher Mitarbeiter des
Christlichen Instituts der Weim. und Weim.
Eink.- und Weim.

